

カルシウムと興奮収縮連関

— Activation と Inactivation に対する Stabilizer
としてのカルシウム作用 —

永井寅男 小坂 功

小原一男 筒浦理正

札幌医科大学生理学第1講座 (主任 永井寅男教授)

高橋正樹 高橋延昭

札幌医科大学附属臨海医学研究所

Calcium and Excitation-Contraction Coupling

— The Action of Calcium as a Stabilizer on
Activation and Inactivation —

Torao NAGAI, Isao KOSAKA, Kazuo OBARA
and Masaaki TSUTSU-URA

*Department of Physiology (Section 1), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. T. Nagai)*

Masaki TAKAHASHI and Nobuaki TAKAHASHI

Marine Biomedical Institute, Sapporo Medical College

The question as to whether extracellular Ca^{++} is essential or not for excitation-contraction (E-C) coupling of skeletal muscle is still debatable. In the present paper, the reports about the effect of Ca^{++} on E-C coupling were reviewed in aspects of the action of Ca^{++} as a stabilizer, the place of which can be taken by the other divalent cations such as Mg^{++} , Mn^{++} , etc.

(Received March 5, 1980 and accepted May 26, 1980)

1 はじめに

骨格筋の興奮収縮連関 (excitation-contraction coupling; E-C coupling) において外液 Ca^{++} が重要な役割を演じていることはよく知られている^{1,2)}。特に、収縮に伴って Ca influx の増加が認められること³⁾、外液 Ca^{++} 除去によって K 拘縮が抑制される (ただし Na^{+} 除去下) こと⁴⁾ は注目される。しかし、この外液 Ca 作用の機序は現在なお明らかでない。この点を K 拘縮の mechanical activation および inactivation の面から整理してみたい。なお以下に引用した報告は、特に記載がなければ、すべて両生類の twitch muscle fiber についてのものである。

2 Activation と inactivation

2.1 Activation および inactivation curve

K 拘縮の活性化 (activation) が種々 K 濃度 (脱分極の程度) に応じて、ある定常値に達し、この K 濃度と activa-

tion の関係を示す活性化曲線 (activation curve; あるいは閾曲線, threshold curve) が S 字状を呈することは Hodgkin and Horowitz⁵⁾ によって明らかにされている。一方、K 拘縮における不活性化 (inactivation) の存在が Hodgkin and Horowitz⁵⁾ によって最初に報告され、Lüttgau⁶⁾ によって確認されたが、彼らはそれを K 拘縮の自発性弛緩と関係づけている。彼らのこの inactivation の測定方法は、190 mM K による拘縮の後に、種々 K 濃度下で 1 分間に tension の回復する程度をもってはかるものであるが、その後 Frankenhaeuser and Lännergren⁷⁾ はヤリイカ巨大神経の Na コンダクタンスの inactivation の測定方法⁸⁾ と同様の方法、すなわち、先ず種々濃度の K で 1 分間前処理 (conditioning) を行い、ついで 190 mM K でテストし、このときの tension の抑制の程度から K 拘縮の inactivation をはかり、conditioning K 濃度と inactivation の関係を示す曲線、すなわち不活性化曲線 (inactivation curve) を描いている。彼らはさらに inactiva-

tion の時間経過を検討し, inactivation が conditioning K 濃度のいかに関係なく時間とともに完全不活性化 (full inactivation) の方向に進行する (ただし, その速度は K 濃度に依存する) ことをみいだした. Frankenhaeuser and Lännergren⁷⁾ のこれらの成績は篠崎・太田⁹⁾ によって確認された.

Nagai *et al.*¹⁰⁾ はこの inactivation の時間経過をさらに詳細に検討し, これが指数関数的に進行し, ある定常値に達する第1相と, それに引き続いて full inactivation の方向に進行する第2相の2相から成ることを明らかにし, 第1相はヤリイカ巨大神経の Na コンダクタンスの inactivation の性質といくつかの点において類似すること, また, これは K 拘縮の自発性弛緩と関係すると考えられること, 第2相は Na コンダクタンスの inactivation についてはなお知られていない相であることを認め, それぞれを inactivation 1 および inactivation 2 と名付けた.

activation curve は高濃度 Ca^{++} 下に右に, 低濃度 Ca^{++} 下に左にずれ, inactivation curve もまた高濃度 Ca^{++} 下に右に, 低濃度 Ca^{++} 下に左にずれる^{6,7,9)}. これら Ca^{++} の作用はヤリイカ巨大神経の Na コンダクタンスの activation および inactivation に対する Ca^{++} の作用¹¹⁾ と似ている点で注目される (3・2・1 項参照).

篠崎・太田⁹⁾ は activation なしに full inactivation が起こる事実 (後述) などにに基づき, K 拘縮における activation と inactivation プロセスはそれぞれ独立のものと考えている. この点と関連して最近 Bezanilla and Armstrong¹²⁾ はヤリイカ巨大神経につき Na コンダクタンスの inactivation プロセスが pronase による内部還流により選択的に破壊されるとの実験から, Na コンダクタンスにおける activation と inactivation の間にはある連関 (coupling) があるという考えを提示している点は注目される.

2・2 Activation なしの inactivation

Frankenhaeuser and Lännergren⁷⁾ および篠崎・太田⁹⁾ は低濃度 Ca^{++} 下に閾下濃度の K^{+} による conditioning により, activation なしに full inactivation の起こることを報告している. その後, Nagai *et al.*¹⁰⁾ は 1.8 mM Ca^{++} 下にも閾下濃度の K^{+} による conditioning により activation なしに, 時間経過が2相性の inactivation (inactivation 1 および 2) が起こり, それが低濃度 Ca^{++} 下に著明に促進されることを認めた. また, Kosaka *et al.*¹³⁾ は上述の低濃度 Ca^{++} 下の inactivation が Na^{+} を choline^{+} で置換すると促進されることを報告している.

さらに, Kosaka *et al.*¹³⁾ は外液 Ca^{++} を除去しさらに 1 mM ethylene glycol bis (β -aminoethyl ether)-N-N'-

tetraacetic acid (EGTA) を加えた条件下に, K 拘縮の peak tension が時間ならびに Na^{+} の有無に依存して抑制される事実に基づき, K^{+} による conditioning (脱分極) によらなくても activation を伴わない inactivation (inactivation 1 および 2) の起こることを報告している. 彼らは, Ca^{++} 除去による脱分極は choline 環境下に K 拘縮が完全に抑制されている時点においてもただか 10 mV 程度であり, かつテスト K による脱分極は十分に起こること, さらにこの時点においてカフェイン拘縮が十分に起こることから, この条件下の K 拘縮の抑制は E-C coupling の遮断によると考えている. この点はその後, 閾下濃度の K conditioning による full inactivation の状態下にも, 190 mM K による脱分極は十分に起こり, かつ十分なカフェイン拘縮も起こる事実から確かめられた¹⁴⁾.

Kosaka *et al.*¹³⁾ はさらに, Ca^{++} 除去下に抑制された K 拘縮の peak tension は Na^{+} および Mg^{++} により一部回復すること, しかも前者は peak tension のみを, 後者は peak tension と軽度ではあるがプラトーをも回復する傾向のあることを認め, Ca^{++} 除去下の “activation なしの inactivation” (inactivation 1 および 2) を Ca^{++} 除去による膜の labilization あるいは表面電位 (surface potential) の増加の2次的作用に帰することができるのではないかと考えている. 同様の事実は最近 K conditioning 下の full inactivation は Ca^{++} を増すことにより回復されることから示された¹⁵⁾.

以上の項で述べてきたように, 外液 Ca^{++} は E-C coupling にとって重要な役割を演じていることは明らかである. 従来, 興奮性組織において, 外液 Ca^{++} あるいは membrane bound Ca の作用として一般に stabilizing action¹⁶⁾ および Ca influx の source³⁾ が考えられている.

3 Stabilizing action

3・1 Stabilizer と labilizer

3・1・1 定義

従来, stabilizer として類別される agent は, 静止電位の小さな, あるいは無視できるほどの変化のもとで, 神経や筋における (1) インパルスをブロックするもの, および (2) 外液 K 濃度の増加や Ca^{++} 除去, その他の要因によって惹き起こされる脱分極を減少あるいは阻止するものと定義され, Ca^{++} はその代表例として知られている¹⁶⁾. しかし, 高濃度 Ca^{++} 下に, K^{+} による脱分極は神経の場合は抑制されるが, 筋では抑制されない^{6,16)} 点で, 上述の (2) の定義は興奮性組織すべてに一般化できずこの点注意を要する.

他方, labilizer は stabilizer と逆の作用を有するものと定義されている¹⁶⁾.

ところで、上述のインパルスのブロックには Na コンダクタンスの activation の抑制あるいは inactivation の促進の二つの場合が考えられる。Frankenhaeuser and Hodgkin¹¹⁾ によれば、高濃度 Ca^{2+} 下にヤリイカ巨大神経における Na コンダクタンスの activation および inactivation はともに抑制され、低濃度 Ca^{2+} 下には逆に、これらがともに促進されるという。したがって、上述の stabilizer の定義としては、この高濃度 Ca^{2+} の作用から Na コンダクタンスの activation を抑制するものと言い換えた方がよりの確であろう。

3.1.2 Surface potential との関係

Chandler *et al.*¹⁷⁾ はヤリイカ巨大神経の細胞内イオン強度の増減によって、Na コンダクタンスの activation および inactivation curve がともに同方向にずれることを認め、これを膜内面の固定陰性電荷 (fixed negative charge) の増減に帰する考えを提示している。また、上述のように高濃度 Ca^{2+} は Na コンダクタンスの activation を抑制し、低濃度 Ca^{2+} は activation を促進する。さらに外液に与えた Ca^{2+} その他の 2 価メタルは膜外面の fixed negative charge を減じ、その結果その surface potential を減ずると考えられている。したがって、stabilizing action および labilizing action の概念は、膜内外の fixed negative charge の変化、あるいは surface potential の変化の作用に置き換えて考えることができよう。

3.2 E-C coupling と stabilizer および labilizer

3.2.1 Mechanical activation と stabilizer および labilizer

上述のように、低濃度および高濃度 Ca^{2+} が K 拘縮の activation curve をそれぞれ左右にずらすことはよく知られている^{6,7,9)}。これは Na コンダクタンスの activation curve に対する Ca^{2+} の作用¹¹⁾ と似た現象である。したがって、このことは Ca^{2+} が膜の電気現象に対すると同様に E-C coupling に対しても stabilizing action を有することを示すものと思われる。事実、Takauji *et al.*¹⁸⁾ は dantrolene が mechanical activation curve を右にずらすことから、dantrolene は一種の E-C coupling の stabilizer であろうと考えている。

Ca^{2+} のこの作用は、他の 2 価メタル (Mn^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} など) で代行され得る。外液に Ca^{2+} が存在するときはそれぞれの stabilizing action が加算的に起こり、activation curve が右にずれる^{19~21)}。また、 Ca^{2+} がない場合にはこれらの 2 価メタルは Ca^{2+} の stabilizing action を代行すると考えられる。

また、膜の labilization あるいは surface potential の増加を起こすと考えられている NO_3^- や SCN^- ²²⁾ が ac-

tivation curve を左にずらすという事実^{22,23)} も低濃度 Ca^{2+} 下に activation curve が左にずれるという事実と一致し、上述の Ca^{2+} が E-C coupling に対しても stabilizing action を有するという考えを支持する。

なお、Gordon and Godt²⁴⁾ は高張液中で mechanical threshold が低下することを認め、これを細胞内イオン強度の上昇による膜内面の fixed negative charge の減少の結果であると考えている。前項に述べたところから、この threshold の変化は、高張液の E-C coupling に対する labilizing action の結果と言い換えることもできよう。

上述の、E-C block 作用を有する dantrolene は charge を持たない点で、2 価メタルや anomalous anion と異なる。dantrolene が fixed negative charge に影響を与えるか否か、また与えるとすればその機序はどうかなどが問題として残される。

3.2.2 Mechanical inactivation と stabilizer および labilizer

低濃度および高濃度 Ca^{2+} は inactivation curve をそれぞれ左右にずらす^{6,7,9)}。また、anomalous anion は inactivation curve を左にずらす²³⁾。これらの事実は Kosaka *et al.*¹³⁾ が Ca^{2+} 除去による inactivation について考えているように、膜の labilization の直接あるいは間接的作用によって inactivation 1 および 2 が促進されることを示すと考えることができるかも知れない。この意味において、 Mn^{2+} などの 2 価メタルの inactivation に対する影響の検討は重要と思われる。他方、dantrolene は activation curve を右にずらす一方、inactivation curve を左にずらす¹⁸⁾ 点で、2 価メタルや anomalous anion 作用と異なる。dantrolene のこの inactivation への作用機序は上述の activation に対する作用機序とともに今後に残された問題である。最近太田¹⁵⁾ は、inactivation により K 拘縮の activation curve は右方にずらされるが、このずれは高濃度 Ca^{2+} などによるずれと異なり、curve 全体が対照に対して一定度抑制される型のずれである点に特徴があり、またこのずれは Ca^{2+} により抑制されるところから、単なる stabilization 作用によらず、むしろ labilization 作用と関係することを示唆している。

以上述べたところから、従来知られている E-C coupling 遮断剤あるいは E-C coupling の遮断を起こす要因の作用は、(1) activation の抑制による場合と (2) inactivation の促進による場合に区別することができ、また (1) の場合は stabilizing action に、(2) の場合は labilizing action と関係すると言いうことができよう。

3.2.3 膜の hyperpolarization と stabilizing action

Curtis²⁵⁾ によれば、 Ca^{2+} 除去、choline 環境下に de-

polarizing current に対する応答が消失しているときに hyperpolarizing current を与えた場合、その強さに依存してその break response が認められるという。この Ca^{++} 除去下の anodal break response は斎藤²⁶⁾ によっても報告されている。また、Curtis²⁵⁾ は K 脱分極下にも同様の response のあることを報告している。これらの事実、 Ca^{++} 除去あるいは K 脱分極による inactivation^{10,13)} が hyperpolarization により回復するものと解することができる。また、この hyperpolarization の作用は Ca^{++} 除去による inactivation の 2 価メタルによる回復作用^{13,27)} に匹敵すると思われる。

ヤリイカ巨大神経の Na コンダクタンスにおいて、脱分極の conditioning 下には test pulse による activation が減少する (inactivation) のに対して、過分極の conditioning 下には、逆に増大することが知られている⁸⁾。Hodgkin and Huxley⁸⁾ はこの事実に対して、他の神経に比べて巨大神経の静止電位が小さいことから、*in vitro* ではすでに *in vivo* より静止電位が小さくなっている (脱分極が起こっている) であろうと考え、*in vitro* で静止時にすでに起こっている脱分極による inactivation が過分極により回復したと解することができることを示唆している。巨大神経の場合のこの過分極作用は、上述の mechanical inactivation に対する過分極の作用と類似する。

他方において、軽度の K 脱分極下に twitch の増強されること、またきわめて一過性に K 拘縮の増強されることが報告されている^{28~30)}。これは NO_3^- ^{22,23)} や低濃度 $\text{Ca}^{++7,9)}$ の activation 増強作用と、その持続性の点においては異なるが、類似している。

以上の事実は、上述の考察から depolarization および hyperpolarization もまたそれぞれ E-C coupling に対して labilizer および stabilizer 的作用を有すると考えることができるかも知れない点で注目される。

4 Self-exchangeable Ca

4.1 Mechanical activation と Ca influx

膜の脱分極に伴って Ca influx の増加することはよく知られている^{3,31,32)} が、Weiss and Bianchi³³⁾ はこの Ca^{++} は筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum; SR) からの Ca^{++} 遊離のトリガーとして作用すると仮定している。この考えは SR からの Ca^{++} 遊離が Ca^{++} によって惹き起こされるという事実^{34~36)} によって支持されるが、この Ca influx の source としては主として self-exchangeable Ca が考えられている³⁾。

Armstrong *et al.*³⁷⁾ は外液 Ca^{++} を除去し、さらに 1 mM EGTA を加えた条件下 (2×10^{-9} M Ca^{++}) にも twitch が

10 分ないしそれ以上持続することを認め、横行小管内腔 (transverse tubular (T) lumen) を含めて外液 Ca^{++} の存在は E-C coupling にとって必要でないと主張した。これに対して、Oota *et al.*³⁸⁾ は彼らの報告を確認するとともに、さらに K 拘縮の peak tension は twitch 消失後も比較的長時間抑制されないことを認めた。Oota *et al.*³⁸⁾ はさらに、Armstrong *et al.*³⁷⁾ の条件下にも self-exchangeable Ca がほとんど正常に存在することを指摘し、twitch や K 拘縮の抑制されにくい事実を Ca influx の source としての self-exchangeable Ca が残存していることで説明しようとした。さらに最近、Barrett and Barrett³⁹⁾ は高濃度の Ca buffer (80–90 mM EGTA あるいは citrate) によって外液 Ca^{++} を 10^{-7} M 以下にすると活動電位が起こるにもかかわらず収縮が抑制されること、さらにこのときカフェイン拘縮は十分に起こることを明らかにし、Ca influx は E-C coupling にとって必要であることを主張している。この Barrett and Barrett³⁹⁾ の報告は注目を要し、さらに彼らの条件下で self-exchangeable Ca の動向を検討することは重要と思われる。

Ca influx が E-C coupling にとって必要であるという考えは、無脊椎動物骨格筋において Ca spike を抑制する作用を持つ $\text{Mn}^{++40)}$ が、カエル twitch muscle の E-C coupling を遮断するという Oota *et al.*⁴¹⁾ や Chiarandini and Stefani¹⁹⁾ の報告によっても支持される。さらに Oota and Nagai³²⁾ は Mn^{++} が K 拘縮に伴う Ca influx の増加を抑えることを明らかにし、上の考えをうらづけた。

Ca influx の意義については、上述の流入した Ca^{++} が直接 SR に作用してそれから Ca^{++} を遊離するという可能性^{33~36)} の他に、流入した Ca^{++} が SR からの Ca^{++} 遊離を間接的に制御するという考え方もなされている。例えば、Beatty and Stefani⁴²⁾ は脱分極に伴う Ca influx が T-system と SR の間の electric coupling を制御するか、または T-system の膜における電場に影響し、SR からの Ca^{++} 遊離をトリガーすると考えられている charge movement^{43,44)} の度合いを modify する可能性を考えている。

上述 (3.2.1) のように Mn^{++} は activation curve を右にずらし¹⁹⁾、 NO_3^- はそれを左にずらす^{22,23)} が、また同時に、 Mn^{++} は脱分極に伴う Ca influx の増加を抑え³²⁾、 NO_3^- はこの Ca influx を増すことも知られている³³⁾。換言すれば、E-C coupling に対して stabilizing action を有する Mn^{++} は Ca influx を抑え、逆に labilizing action を有する NO_3^- は Ca influx を増す。また Reuter⁴⁵⁾ は stabilizer の定義を無脊椎動物骨格筋の Ca conductance の抑制にまで拡大している。これらの点を考慮すれば、上述の E-C coupling に対する stabilizing action と labilizing

action は, Ca influx に対する stabilizing action と labilizing action に置き換えることができるかもしれない。

以上において, Ca influx は E-C coupling にとって必須であり, influx した Ca^{++} が直接あるいは間接的に SR から Ca^{++} の遊離に関係しているであろうという立場から述べてきたが, 上述の E-C coupling に対する stabilizer および labilizer が, Ca influx と無関係に SR からの Ca^{++} 遊離を制御しているという考え方も可能であろう。Dörrscheidt-Käfer²¹⁾ は外液に与えた Ca^{++} や他の 2 個メタルの影響による mechanical threshold のずれを説明する一つの可能性として, これらによる surface potential の変化が charge movement^{43,44)} に対して直接的に影響した結果であるかも知れないと考えている。したがって上述の Mn^{++} 作用をこのように解釈することも可能であるかも知れない。

以上述べてきたように, 外液 Ca^{++} あるいは self-exchangeable Ca は, 脱分極に伴う Ca influx の source である反面 stabilizer としても作用し, それにより Ca influx そのものあるいは charge movement のような可能な T-system と SR の間の情報伝達機構を制御するものと考えられるかも知れない。この意味において, Ca influx の外液 Ca^{++} 濃度依存性およびそれに伴う self-exchangeable Ca の動向の精査が必要とされよう。

なお, Ca influx の source に関して Lorković⁴⁶⁾ は Ca influx および self-exchangeable Ca に対する pH の影響を検討し, Ca^{++} の self-exchangeability は pH 5 で抑制されないこと, また, self-exchangeable Ca は pH 5 で release されないこと, さらに収縮に伴う ^{45}Ca influx の増加は pH 5 では ^{45}Ca をあらかじめ pH 7 で loading した場合に限って認められることなどの事実に基づいて, Ca influx の source は self-exchangeable Ca ではなく, 他のある site の Ca^{++} であると考えている。また, Endo⁴⁷⁾ は SR からの Ca^{++} induced Ca^{++} release の生理的意義に関して, (1) 生理的条件下にある小胞体から Ca^{++} induced Ca^{++} release を起こすために必要な濃度は 3×10^{-4} M 以上であり⁴⁸⁾, そのような高い Ca^{++} 濃度が生理的条件下に得られるとは考え難いこと, (2) procaine で Ca^{++} induced Ca^{++} release 機構を強く抑えても, 正常な T-system 脱分極による収縮はまったく抑制されないこと⁴⁹⁾ などの理由から, むしろ否定的立場にある。Lorković⁴⁶⁾ と Endo^{47,48)} および Thorens and Endo⁴⁹⁾ のこれらの報告は, T-system と SR の間の情報伝達機構と関連して, 注意しておかなければならない。

以上述べてきた両生類の twitch muscle fiber の場合と異なり, 収縮に伴い細胞外より流入する Ca^{++} 量が直接収

縮要素を賦活するために十分である, とされているカエルの tonic muscle⁵⁰⁾, 甲殻類骨格筋^{51,52)} そして平滑筋ではあるが, その K 拘縮が phasic である⁵³⁾ イガいの catch muscle (anterior byssus retractor muscle, ABRM)⁵⁴⁾ などにおいては, 収縮の賦活に必要とされる Ca^{++} は, 少なくともその一部あるいは全部が外液 Ca^{++} の流入によってもたらされると考えられている^{45,55,56)}。これらのうちカエルの tonic muscle^{55,57,58)} とイガいの ABRM⁵⁶⁾ の activation curve は外液 Ca^{++} 濃度の減少により, 閾値は低下するかあるいはほとんど変化なしに高濃度 K^{+} の側で下方にずれる。これは, 外液 Ca^{++} 濃度の減少により, 高濃度 K^{+} 下の tension はほとんど変化されずに, activation curve が左にずれるという, 両生類の twitch muscle fiber の場合と明らかに異なる。この相違は, 収縮要素を賦活する Ca^{++} が細胞外に由来するか, 細胞内 store に由来するかの差によると考えられる^{55,56)}。 Ca^{++} の stabilizing action がこれらの筋の E-C coupling においても同様に働くと仮定すればこの相違は以下のように説明できると思われる。すなわち, 一般に上述の両生類の twitch muscle fiber のように外液 Ca^{++} の減少の結果, その labilization により閾値が低下する (activation curve が左にずれる; すなわち activation が増強される)。しかし, 収縮要素の賦活が細胞外からの流入 Ca^{++} に大きく依存する場合^{55,57,58)} には, その賦活のための Ca^{++} 源が外液 Ca^{++} の減少によって同時に減ることになり, したがって activation は必然的に抑制される。これらの増強作用と抑制作用が相拮抗した結果, 閾値付近では見かけ上 activation にほとんど変化なく, 高濃度 K^{+} 下に activation curve が下方にずれるということが起こるのであろう。同様の考えは Kaumann and Uchitel⁵⁸⁾ によってもなされている。彼らはカエルの slow muscle の K 拘縮に対して Ca^{++} は 2 つの相反する作用, すなわち, 閾値の上昇および tension の増強作用を持つと仮定している。

高橋・高橋⁵⁹⁾ はザリガニの骨格筋における K 拘縮の activation curve は外液 Ca^{++} 濃度の減少および増加により, 上述の両生類の twitch muscle fiber の場合と同様に左右にずれることをみだした。彼らのこの成績は, Chiarandini *et al.*⁶⁰⁾ が示唆しているようにその収縮要素賦活のための Ca^{++} が細胞外にも一部由来するとすれば, 上述の見解に反するかにみえる。しかし, ザリガニ骨格筋における収縮要素賦活の外液 Ca^{++} に対する依存の度合いが比較的低い, と仮定すれば矛盾はないであろう。なお, 高橋・高橋⁵⁹⁾ はザリガニ骨格筋の K 拘縮における外液 Ca^{++} 濃度の増加による閾値の上昇を Ca^{++} の stabilizing action によるものと考えている。

4.2 Mechanical inactivation と Ca influx

Weiss and Bianchi³³⁾ や Oota and Nagai³²⁾ は K 拘縮が自発的に弛緩している時点では ^{45}Ca influx の増加がほとんど認められないことを示す成績を報告している。これらの報告は K 拘縮の inactivation と Ca influx の inactivation が密接に関係することを示唆する点で注目される。

前項でも触れたように、 Ca^{++} 除去下にも self-exchangeable Ca は除去されにくく、K 拘縮が完全に抑制されている時点 (inactivation 2) においても self-exchangeable Ca は十分に残っており³⁸⁾、さらにこの inactivation を促進する choline 環境下¹³⁾ にも self-exchangeable Ca^{++} は変化しない⁶¹⁾。これらの事実は Ca influx の source としての self-exchangeable Ca の意義を疑わせる。しかし、E-C coupling にとって Ca influx が必須であるとする立場からは、 Ca^{++} 除去による inactivation は、 Ca^{++} 除去 (おそらくそれによる labilization) により時間とともに self-exchangeable Ca を動き得なくするある process が進行すると考えることによって、一応説明できるかも知れない。この考えにとって上の Oota *et al.*³⁸⁾ や鈴木⁶¹⁾ の実験を、それらの条件下に K 脱分極による Ca influx が実際に起こらないかどうかに注意して精査することは重要である。

他方、charge movement^{43,44)} の inactivation と repriming の時間経過が mechanical inactivation と repriming の時間経過と非常によく似ている⁴⁴⁾ 点は注目しておかなければならない。

なお、charge movement の activation および inactivation に関しては別報⁶²⁾ で詳述する。

5 む す び

外液 Ca^{++} は興奮性組織の一般的電気現象に対すると同様に、E-C coupling に対しても stabilizer としての作用を有することを述べた。E-C block の内容として activation の抑制と inactivation の促進の二つの場合が考えられ、前者の場合は stabilizing action、後者の場合は labilizing action と関係して起こる点が注目される。Stabilizing action および labilizing action は、surface potential の変化で表わすことによりさらに具体化されるが、この場合さらにこの変化をもたらし agent の作用部位、すなわち膜の外面向内面か、またこれらの面における fixed negative charge などが注意されなければならない。これらの点は、E-C blocker の作用部位が T-membrane か triadic junction かあるいは SR であるかの問題とともに E-C coupling 機構を解明する上で重要である。

T-system と SR の間の情報伝達機構としては、現在 Ca influx および charge movement の重要性が考えられているが、このいずれが本質的であるか、また両者の関係はどうかなどについてはなお不明である。しかしながら、上述の stabilizing action および labilizing action は Ca influx や charge movement に対する制御作用としてはたらく可能性は十分考えられよう。

なお、以上の点は、最近注目されている K 拘縮の 2 相性^{63,64)} の問題とも関連して注目される。

文 献

1. 永井寅男：筋の生理学。朝倉書店、東京 (1974)。
2. 永井寅男、太田 勲：興奮収縮連関の問題点、特にカルシウムの役割について。札幌医誌 **43**, 394-406 (1974)。
3. Bianchi, C. P. and Shanes, A. M.: Calcium influx in skeletal muscle at rest, during activity, and during potassium contracture. *J. Gen. Physiol.* **42**, 803-815 (1959)。
4. Frank, G. B.: Effects of changes in extracellular calcium concentration on the potassium-induced contracture of frog's skeletal muscle. *J. Physiol.* **151**, 518-538 (1960)。
5. Hodgkin, A. L. and Horowicz, P.: Potassium contracture in single muscle fibres. *J. Physiol.* **153**, 386-403 (1960)。
6. Lüttgau, H. C.: The action of calcium ions on potassium contractures of single muscle fibres. *J. Physiol.* **168**, 679-697 (1963)。
7. Frankenhaeuser, B. and Lännergren, J.: The effect of calcium on the mechanical response of single twitch muscle fibres of *Xenopus laevis*. *Acta Physiol Scand.* **69**, 242-254 (1967)。
8. Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F.: The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* **116**, 497-506 (1952)。
9. 篠崎文彦、太田 勲：カエル Twitch Muscle Fiber と K-contracture について —Mechanical Activation と Inactivation の関係—。札幌医誌 **45**, 41-50 (1976)。
10. Nagai, T., Takauji, M., Kosaka, I. and Tsutsura, M.: Biphasic time course of inactivation of potassium contractures in single twitch muscle fibers of the frog. *Jpn. J. Physiol.* **29**, 539-549 (1979)。
11. Frankenhaeuser, B. and Hodgkin, A. L.: The action of calcium on the electrical properties of

- squid axons. *J. Physiol.* **137**, 218-244 (1957).
12. Bezanilla, F. and Armstrong, C. M.: Inactivation of the sodium channel. I. Sodium current experiments. *J. Gen. Physiol.* **70**, 549-566 (1977).
 13. Kosaka, I., Oota, I., Suzuki, T. and Nagai, T.: Time- and Na-dependent effects of Ca depletion on potassium contracture in frog twitch muscle fiber. *Jpn. J. Physiol.* **27**, 511-524 (1977).
 14. Kosaka, I. and Nagai, T.: Inactivation and restoration in potassium contractures of frog single twitch muscle fibers. in preparation.
 15. 太田 勲, 小坂 功, 永井 格: カエル速筋線維のカリウム拘縮に対する閾下濃度の K による conditioning の影響ならびに inactivation に対する Ca の影響. 投稿準備中.
 16. Shanes, A. M.: Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Part I. Resting cell and its alternation by extrinsic factors. Part II. The action potential and excitation. *Pharmacol. Rev.* **10**, 59-273 (1958).
 17. Chandler, W. K., Hodgkin, A. L. and Meves, H.: The effect of changing the internal solution on sodium inactivation and related phenomena in giant axons. *J. Physiol.* **180**, 821-836 (1965).
 18. Takauji, M., Takahashi, N., Suzuki, T. and Nagai, T.: Inhibitory action of dantrolene sodium on the activation of excitation-contraction coupling in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.* **27**, 731-741 (1977).
 19. Chiarandini, D. J. and Stefani, E.: Effects of manganese on the electrical and mechanical properties of frog skeletal muscle fibres. *J. Physiol.* **232**, 129-147 (1973).
 20. 小坂 功: 未発表.
 21. Dörrscheidt-Käfer, M.: The action of Ca^{2+} , Mg^{2+} and H^{+} on the contraction threshold of frog skeletal muscle. *Pflügers Arch.* **362**, 33-41 (1976).
 22. Hodgkin, A. L. and Horowicz, P.: The effect of nitrate and other anions on the mechanical response of single muscle fibres. *J. Physiol.* **153**, 404-412 (1960).
 23. Nagai, I., Oota, I. and Nagai, T.: Effect of SCN on potassium contracture in twitch muscle fibers of the frog. *Jpn. J. Physiol.* **29**, 61-73 (1979).
 24. Gordon, A. M. and Godt, R. E.: Some effects of hypertonic solutions on contraction and excitation-contraction coupling in frog skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **55**, 245-275 (1970).
 25. Curtis, B. A.: Some effects of Ca-free choline-Ringer solution on frog skeletal muscle. *J. Physiol.* **166**, 75-86 (1963).
 26. 斎藤 弘: 脱 Ca 筋の電気的ならびに機械的応答に対する陽電流の影響. *札幌医誌* **26**, 95-101 (1964).
 27. Frank, G. B.: Utilization of bound calcium in the action of caffeine and certain multivalent cations on skeletal muscle. *J. Physiol.* **163**, 254-268 (1962).
 28. Mashima, H. and Matsumura, M.: Roles of external ions in the excitation-contraction coupling of frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.* **12**, 639-653 (1962).
 29. Vos, E. C. and Frank, G. B.: The threshold for potassium-induced contractures of frog skeletal muscle. Potentiation of potassium-induced contractures by preexposure to subthreshold potassium concentrations. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **50**, 37-44 (1972).
 30. Chiarandini, D. J. and Stefani, E.: Twitch potentiation by potassium contractures in single muscle fibres of the frog. *J. Physiol.* **240**, 1-14 (1974).
 31. Curtis, B. A.: Ca influxes in single twitch muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* **50**, 255-267 (1966).
 32. Oota, I. and Nagai, T.: Radioactive calcium influx at rest and during potassium contracture in the T-disrupted, and the urea- or manganese-treated frog sartorius muscles. *Jpn. J. Physiol.* **26**, 385-394 (1976).
 33. Weiss, G. B. and Bianchi, C. P.: The effect of potassium concentration on Ca^{45} uptake in frog sartorius muscle. *J. Cell Comp. Physiol.* **65**, 385-392 (1965).
 34. Endo, M., Tanaka, M. and Ogawa, Y.: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. *Nature, London.* **228**, 34-36 (1970).
 35. Ford, L. E. and Podolsky, R. J.: Regenerative calcium release within muscle cells. *Science* **167**, 58-59 (1970).
 36. 高氏 昌, 鈴木 稔子, 永井 寅男: 分離筋小胞体からの Ca による Ca 遊離. *日本生理誌* **36**, 332-333 (1974).
 37. Armstrong, C. M., Bezanilla, F. M. and Horowicz, P.: Twitches in the presence of ethylene glycol bis (β -aminoethyl ether)-N, N'-tetraacetic acid. *Biochim. Biophys. Acta* **267**, 605-608 (1972).
 38. Oota, I., Kosaka, I. and Nagai, T.: Role of superficially membrane-bound calcium on excitation-contraction coupling in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.* **26**, 117-126 (1976).

39. Barrett, J. N. and Barrett, E. F.: Excitation-contraction coupling in skeletal muscle; Blockade by high extracellular concentration of calcium buffers. *Science* **200**, 1270-1272 (1978).
40. Hagiwara, S. and Nakajima, S.: Differences in Na and Ca spikes as examined by application of tetrodotoxin, procaine, and manganese ions. *J. Gen. Physiol.* **49**, 793-806 (1966).
41. Oota, I., Takauji, M. and Nagai, T.: Effects of manganese ions on excitation-contraction coupling in frog sartorius muscle. *Jpn. J. Physiol.* **22**, 379-392 (1972).
42. Beaty, G. N. and Stefani, E.: Calcium dependent electrical activity in twitch muscle fibres of the frog. *Proc. R. Soc. London, Ser. B.* **194**, 141-150 (1976).
43. Schneider, M. F. and Chandler, W. K.: Voltage dependent charge movement in skeletal muscle: a possible step in excitation-contraction coupling. *Nature, London.* **242**, 244-246 (1973).
44. Chandler, W. K., Schneider, M. F., Rakowski, R. F. and Adrian, R. H.: Charge movements in skeletal muscle. *Phil. Trans. R. Soc.* **B 270**, 501-505 (1975).
45. Reuter, H.: Divalent cations as charge carriers in excitable membranes. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **26**, 1-43 (1973).
46. Lorković, H.: The effect of pH on the mechanical activity of the frog toe muscle. *J. Gen. Physiol.* **50**, 863-882 (1967).
47. Endo, M.: Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiol. Rev.* **57**, 71-108 (1977).
48. Endo, M.: Conditions required for calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum. *Proc. Jpn. Acad.* **51**, 467-472 (1975).
49. Thorens, S. and Endo, M.: Calcium-induced calcium release and "depolarization"-induced calcium release: Their physiological significance. *Proc. Jpn. Acad.* **51**, 473-478 (1975).
50. Bianchi, C. P.: Comparison of Ca^{45} and total calcium changes in frog slow and fast fibers during contracture. *Fed. Proc.* **23**, Pt. 1, 420 (1964).
51. Gainer, H.: The role of calcium in excitation-contraction coupling of lobster muscle. *J. Gen. Physiol.* **52**, 88-110 (1968).
52. Ashley, C. C. and Rindgway, E. B.: On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres. *J. Physiol.* **209**, 105-130 (1970).
53. Twarog, B. M.: Responses of a molluscan smooth muscle to acetylcholine and 5-hydroxytryptamine. *J. Cell Comp. Physiol.* **44**, 141-163 (1954).
54. Hagiwara, E. and Nagai, T.: ^{45}Ca movement at rest and during potassium contracture in mytilus ABRM. *Jpn. J. Physiol.* **20**, 72-83 (1970).
55. Hayatsu, Y., Kosaka, I., Tsutsu-ura, M. and Nagai, T.: Potassium contracture in the tonic bundle isolated from the enlarged flexor carpi radialis muscle of the frog. in preparation.
56. Hasumi, T., Kosaka, I. and Nagai, T.: Potassium contracture of anterior byssus retractor muscle of *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol.* in press.
57. Kirby, A. C.: Frog tonic muscle fibers: extracellular calcium and excitation-contraction coupling. *Am. J. Physiol.* **219**, 1446-1450 (1970).
58. Kaumann, A. J. and Uchitel, O. D.: Reversible inhibition of potassium contractures by optical isomers of verapamil and D 600 on slow muscle fibres of the frog. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **292**, 21-27 (1976).
59. 高橋延昭, 高橋正樹: ザリガニ単一骨格筋線維の K 拘縮に対する外液 Ca^{++} 濃度の影響. 特に mechanical activation ならびに inactivation に関して. *札幌医誌* **47**, 571-581 (1978).
60. Chiarandini, D. J., Reuben, J. P., Girardier, L., Katz, G. M. and Grundfest, H.: Effects of caffeine on crayfish muscle fibres. II. Refractoriness and factors influencing recovery (repriming) of contractile responses. *J. Gen. Physiol.* **55**, 665-687 (1970).
61. 鈴木稔子: 未発表.
62. 高氏 昌, 鈴木稔子, 筒浦理正, 高橋正樹, 永井寅男: 未発表.
63. Costantin, L. L.: Biphasic potassium contractures in frog muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* **58**, 117-130 (1971).
64. Takauji, M., Tsutsu-ura, M. and Nagai, T.: Biphasic potassium contractures in frog single twitch muscle fibers and effects of various agents on the contractures. *Jpn. J. Physiol.* **30**, 205-218 (1980).